性信息素2,6-二氯酚在长角血蜱交配行为中的作用*

刘敬泽① 姜在阶② 李仲来② 杨亦萍② 孙儒泳②

（①河北师范大学生物系，石家庄 050016；② 北京师范大学，北京 100875）

摘要 长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis* 的交配行为包括 7 个时期，行为的完成依赖于性信息素的调节。生物测定表明：雄蜱的行为反应受雌蜱分泌的性信息素影响。堵塞雌蜱盾窝其行为受到抑制，点滴2,6-DCP 或雌蜱盾窝腺提取物则被恢复。用气相色谱法测定了雌蜱盾窝腺中2,6-DCP 的含量；吸血后 1～2 天含量最高（11.12 ng/只）；吸血后 3～5 天即交配前下降交维持在一较恒定的水平；吸血后 6～7 天即交配后明显降低；饱血后检测不到2,6-DCP 。2,6-DCP 是长角血蜱性信息素的一种成分。

关键词 长角血蜱，2,6 -二氯酚，交配行为

蜱类的许多行为由信息素（pheromone）调节，以提高存活率、成功地寻找配偶和对宿主的识别[1]。已发现的蜱类信息素有三类：集合集息素（assembly pheromone）；聚集/叮咬信息素（aggregation/attachment pheromone）和性信息素（sex pheromone）[2]。

性信息素最早由 Berger 等[3]在美洲花蜱 *Amblyamma americanum*、有斑花蜱 *A. maculatum* 和变异革蜱 *Dermacentor variabilis* 中发现。后来在美洲花蜱中证明这种性信息素的化学成分是2,6 -二氯酚（2,6 -dichlorophenol，简称2,6 -DCP）[4]。2,6 -DCP 由吸血的雌蜱释放，刺激并吸引性活动的雄蜱 ，从而成功地交配。软蜱和前沟类硬蜱不具有这种信息素，2,6 -DCP 仅存在于后沟类硬蜱[5]。尽管2,6 -DCP 在后沟类硬蜱中较普遍，但并不是所有种类中都存在。如扇头蜱 *Rhipicephalus compositus*，*R. pulchellus*，*R. simus* 和 *R. appendiculatus* 中检测不到2,6 -DCP，四种的雄蜱对2,6 -DCP 没反应，它们对苯酚和对甲酚有反应[6]。2,6 -DCP 由雌蜱的盾窝腺产生[7,8]。

本文以广泛分布于我国的长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis* 为研究对象，对其交配行为、吸血期2,6 -DCP 的含量变化及其作用进行了研究。以阐明交配行为模式和2,6 -DCP 的含量变化及其作用。

1 材料与方法

1.1 蜱的来源和喂养

长角血蜱饱血若虫采自北京门头沟区黄塔乡羊耳上。在实验室光照培养箱（27±1)℃；

* 国家自然科学基金资助项目

1996-09-10 收稿，1997-03-17 收修改稿

RH75%；光照18 h中培养。若虫蜕皮为成虫。饥饿成虫、幼虫和若虫均在兔耳上饱血，非寄生期培养在光照培养箱中。

1.2 生物测定

在宿主体背面选择一直径8 cm的圆形区域，去毛后用一锥形布袋封闭。将雌蜱（25只）和雄蜱（25只）放入布袋内。将8 cm的圆形区域分为相等的左（L）和右（R）两部分。1～2天后成蜱附着在宿主皮肤上吸血，分别将L中的雌蜱和R中的雄蜱去掉，L中的雄蜱和R中雌蜱各保留20只。4～5天后观察下列5种情况下雄蜱在L和R中的分布数量：（1）未处理（作为对照)；（2）用凡士林将吸血后2天雌蜱的盾窝堵塞；（3）在（2）处理后连续3天点滴丙酮溶液，每天1 μL；（4）在（2）处理后连续3天点滴标准2,6-DCP（10 ng/μL)，每天1 μL；（5）在（2）处理后连续3天点滴吸血后1～2天雌蜱盾窝腺提取物（1盾窝腺/μL)，每天1 μL。以上5种情况各重复6次。

1.3 气相色谱

1.3.1 2,6-DCP的提取：将吸血后不同时间的雌蜱（10～30只）在实体解剖镜下解剖，将盾窝腺取出放入KD浓缩器中，加入适量（约0.2 mL）丙酮，用超声波破碎组织，置低温冰箱放置过夜。然后加25 μL PFB-Br标准衍生试剂和数粒无水碳酸钾，摇匀后封闭。将KD浓缩器下部（含样品部分）浸入65℃恒温水浴中反应1 h。取出KD浓缩，冷却至室温，用氮气吹干丙酮，正己烷定容至0.5 mL[9]。

1.3.2 色谱条件：色谱柱为两个填充柱，柱1：2 000 mm×3 mm玻璃填充柱，5%的硅油-1，Chromosorb W AW-DMGS 60～80目和3%QF-1 Chromosorb W AM-DMGS 60～80目（1∶1）混合均匀后填充，柱温145℃，汽化室及检测器温度250℃，用高纯氮作载气，纸速为2 mm/min；柱2：2 000 mm×3 mm不锈钢填充柱，5%SE-30，SW DW-DMGS 60～80目，柱温155℃，其它条件同柱1[9]。

1.3.3 仪器和试剂：日本岛津GC-9A气相色谱仪，63Ni电子捕获检测器。衍生试剂PFB-Br为美国Aldrich Chemical Co. 产品，其丙酮标准溶液浓度为232.4 mg/L，标准2,6-二氯酚为Sigma Chemical Co. 产品，其丙酮标准溶液浓度为1.352 mg/L。丙酮、己烷为北京化工厂产品（分析纯)。

2 结果

2.1 长角血蜱的交配行为

根据雄蜱的行为特征，将长角血蜱的交配行为分为7个时期：（1）雄蜱离开吸血附着点寻找性活动的雌蜱；（2）趋向并接近性活动的雌蜱；（3）接触并攀登到雌蜱的背面；（4）从雌蜱身体后端或侧面转向腹面，此时雌蜱后端常常抬起；（5）雄蜱在腹面刺探以确定雌蜱生殖孔的位置，并与雌蜱腹面相对，两者的附肢交叉在一起。通常是雄蜱的第一对附肢插入到雌蜱的第二和第三对附肢间；（6）雄蜱的盾板弯曲，将螯肢插入雌蜱生殖孔刺探；（7）精荚形成，螯肢将精荚送入雌蜱生殖孔。交配后雄蜱在雌蜱附近再叮咬吸血。

一般情况下，每只雌蜱附近有一只雄蜱。当雄蜱的数量多于雌蜱时，雌蜱附近常常有2

～3 只雄蜱，但只有一只雄蜱与之交配。

2.2　生物测定

将宿主体背面 8 cm 的圆形区域分为相等的左（L）和右（R）两部分，成虫吸血后 L 和 R 中各分别保留 20 只雄蜱和 20 只雌蜱。吸血后 4～5 天分别观察 5 种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布，结果见表 1。

表 1　各种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布

Table 1　The distribution of males in L and R at various treatment

处理组别 Groups treated	L 中蜱数量(只) No. in L(ind.)	R 中蜱数量(只) No. in R(ind.)	处理组别 Groups treated	L 中蜱数量(只) No. in L(ind.)	R 中蜱数量(只) No. in R(ind.)
A. 对照	2	18	C. 丙酮	8	12
Control	2	18	Acetone	11	9
	4	16		14	6
	1	19			
	3	17	D. 2,6-DCP	3	17
	3	17		5	15
				6	14
B. 堵塞盾窝	8	12		3	17
Fovea blocked	9	11		2	18
	12	8		4	16
	13	7			
	11	9	E. 盾窝腺提取物	5	15
	10	10	Extract of foveal gland	5	15
				6	14
C. 丙酮	11	9		4	16
Acetone	13	7		11	9
	9	11		8	12

用非参数检验的秩和检验（rank sum test）方法对 5 种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布进行检验，A、D 和 E 三种处理，雄蜱在 L 和 R 中的分布差异显著（$P<0.01$），B 和 C 不显著（$P>0.05$）（表 2）。

用非参数的 Kruskal-Wallis 检验对 A、B、C、D 和 E 五组雄蜱在 R 中的分布作整体比较，总体分布差异显著（$\chi^2=22.816$，$df=4$，$P<0.01$）。

非参数检验的 Wilcoxon-wilcox 秩和检验结果，AB、AC 间差异显著（$P<0.01$），AD、AE 间无差异（$P>0.05$）。再将 BC、DE 分别做秩和检验，BC 间差异不显著（$P>0.05$），DE 间有差异（$P<0.05$）。

表 2　各种处理下雄蜱在 L 和 R 中的分布检验（rank sum test）

Table 2　The distribution test of males in L and R at various treatment (rank sum test)

组别 Groups	χ^2	P
A	8.4255	0.0037
B	0.7894	0.3743
C	1.6882	0.1938
D	8.3662	0.0038
E	7.4624	0.0063

2.3 雌蜱吸血期2,6 -DCP 的含量变化

吸血不同时间和饱血后雌蜱盾窝腺中2,6 -DCP 含量见表 3,气相色谱见图 1。吸血后 1～2 天含量最高 (11.12 ng/只)。吸血后 3 天开始下降,但维持在一较恒定的水平 (3～5 天)。交配后即吸血 6～7 天明显下降,饱血后下降为零。

表 3 雌蜱吸血期2,6 -DCP 的含量变化

Table 3 The variation of 2,6 -DCP during female feeding peroid

生理时期 Physiological stage	天 Day	实验个体数(只) No. of tested (ind.)	2,6-DCP 含量(ng/只) 2,6-DCP concentration(ng/ind.)
吸血	1～2	10	11.12 ± 1.86
Feeding	3	10	8.24 ± 1.23
	4	10	8.65 ± 1.52
	5	10	8.86 ± 1.35
交配后	6～7	10	4.12 ± 0.83
After mating	8	10	2.47 ± 0.47
饱血后	0	30	0.00
After engorgement			

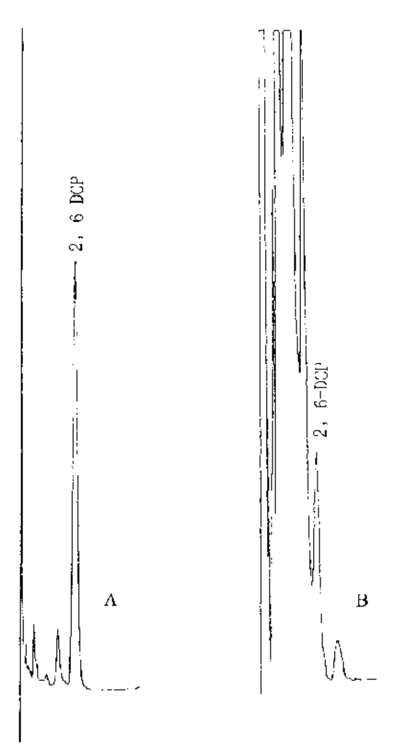


图 1 性信息素2,6 -DCP 气相色谱图

Fig. 1 Representative chromatogram of 2,6 -DCP obtained with GC

A: 标准样品; B. 吸血后 1～2 天盾窝腺提取样品

3 讨论

长角血蜱的交配行为分为 7 个时期,其行为模式与 Sonenshine[1]描述的后沟类硬蜱行为模式相同。生物测定结果:A、D 和 E 中雄蜱在 L 和 R 中的分布差异显著 ($P<0.01$),表明雄蜱受雌蜱释放的信息素所吸引,这种信息素的有效成分是2,6 -DCP 并由盾窝腺产生。堵塞盾窝 B 阻断雄蜱的行为反应,说明2,6 -DCP 通过雌蜱盾窝释放。组间整体比较,总体分布差异极显著。但 Wilcoxon-wilcox 秩和检验中 D 和 E 间存在差异 ($P<0.05$),这种差异可能是2,6 -DCP 提取过程中丢失,生物测定中所用提取物量不足所致。

质窝腺中性信息素2,6 -DCP 含量变化反映了这种化合物的生物合成、储存、释放、排空以及与交配行为的关系。是动物长期演化中形成的一种生理适应。吸血后 1～2 天其含量最高 (11.12 ng/只),表明吸血前已开始合成,并储存在腺体中,为完成其行为调节功能做好了准备。吸血后 3～5 天即交配前含量下降,储存的2,6 -DCP 开始不断地释放。此期内含量较恒定,表明有新的信息素合成。吸血后 6～8 天即交配后含量明显下降,饱血后降为零。李莹[8]在亚洲璃眼蜱 *H. asiaticum asiaticum* 中用 X-衍射微区分析测定盾窝表面氯的含量,交配前含量最高,2,6 -DCP 释放量最大。长角血蜱交配前盾窝腺中2,6 -DCP 含量下降是由于不断释放的结果。

性信息素2,6 -DCP 已在 5 属 14 种硬蜱中发现,它可能是后沟类硬碑中普遍存在的性信

息素[10]。2,6-DCP 是种间的，无种属差异，多数种类的雄蜱能被2,6-DCP 激发以趋向性活动的雌蜱，但嗜驼璃眼蜱 *H. dromedarii* 和璃眼蜱 *H. anatolicum excavatum* 例外，它们在同一宿主相同位置上吸血，前者的雌蜱释放高浓度的2,6-DCP 以驱赶后者的雄蜱；而前者的雄蜱被同种的雌蜱吸引，但不能感受后者释放的低浓度2,6-DCP[5]。这两种蜱已发生种间隔离，使配偶在求偶过程的开始就能区分同种个体。

除2,6-DCP 以外，交配行为的完成还依赖于其他性信息素的调节以实现种的识别。变异革蜱 *D. variabilis*[11]、嗜驼璃眼蜱和血红扇头蜱 *R. sanguineus*[12]中存在第二种性信息素——攀缘性信息素（mounting sex pheromone，MSP），用于引导雄蜱的攀缘行为。变异革蜱和安氏革蜱 *D. andersoni* 交配行为的完成必须感受第三种性信息素——生殖性信息素（genital sex pheromone，GSP）[12,13]。长角血蜱是否存在 MSP、GSP 或其它性信息素有待进一步研究。

参 考 文 献（References）

1　Sonenshine D E. Biology of ticks. New York：Oxford University Press. 1991，1：331

2　邓国藩，姜在阶. 中国经济昆虫志，第三十九册，蜱螨亚纲，硬蜱科. 北京：科学出版社，1991，195

3　Berger R S，Duka J C，Chow Y S. Demonstration of a sex pheromone in three species of hard tick. J. Med. Entomol.，1971，8：84～86

4　Berger R S. 2,6-dichlorophenol，sex pheromone of the lone star tick. Science，1972，177：704～705

5　Siverstein R M，West J R，Sonenshine D E *et al*. Occurrence of 2,6-dichlorophenol in hard ticks，*Hyalomma dromedarii* and *Hyalomma anatolicum excavatum*，and its role in mating. J. Chem. Ecol.，1983，9：1 543～1 549

6　Wood W F，Leahy M G，Galun R *et al*. Phenols as pheromones of ixodid ticks：a general phenomenon? J. Chem. Ecol.，1975，1：501～509

7　Sonenshine D E，Silverstein R M，Collins L A. The foveal glands，source of sex pheromone production in the tick *Dermacentor andersoni* Stiles. J. Chem. Ecol.，1977，3（6）：695～706

8　李　莹，姜在阶. 硬蜱盾窝腺释放性信息素. 昆虫学报，1992，35（2）：148～152

9　李惠林，张　帆，杨亦萍等. 化学衍生电子捕获气相色谱法测定硬蜱性外激素2,6-二氯酚. 北京师范大学学报（自然科学版），1989，4：90～91

10　Sonenshine D E. Pheromones and other semiochemicals of the Acari. Annu. Rev. Entomol.，1985，30：1～28

11　Hamilton J G C，Sonenshine D E，Lusby W R. Cholesteryl oleat：mounting sex pheromone of the hard tick *Dermacentor variabilis*（Say）（Acari：Ixodidae）. J. Insect Physiol.，1989，35：873～879

12　Sobbhy H，Aggour M G，Sonenshine D E *et al*. Cholesteryl esters on the body surfaces of the camel tick，*Hyalomma dromedarii*（Koch. 1844）and the brown dog tick，*Rhipicephalus sanuineus*（Latreille，1806）. Exp. & Appl. Acarol.，1994，18：265～280

13　Sonenshine D E，Khalii G M，Homsher P J *et al*. *Dermacentor variabilis* and *Dermacentor andersoni*：Genital sex pheromones. Exp. Parasitol.，1982，54：317～330

14　Taylor D，Phillips J S，Sonenshine D E *et al*. Ecdysteroids as a component of the genital sex pheromone in two species of hard ticks，*Dermacentor variabilis* and *Dermacentor andersoni*（Acari：Ixodidae）. Exp. & Appl. Acarol.，1991，12：275～296

ROLE OF SEX PHEROMONE，2，6-DICHLOROPHENOL，IN THE MATING BEHAVIOUR OF *HAEMAPHYSALIS LONGICORNIS*（ACARI：IXODIDAE）

Liu Jingze① Jiang Zaijie② Li Zhonglai② Yang Yiping② Sun Ruyong②

（①Hebei Normal University，Shijiazhuang 050016；② Beijing Normal University，Beijing 100875）

Abstract The mating behaviour of *Haemaphysalis longicornis* consisted of 7 stages. Bioassay suggested that male response was regulated by the sex pheromone secreted by females. Blocking up female fovea，male response was inhibited；while topical application of 2，6-DCP or extract of female foveal glands could restore it. A highest level of 2，6-DCP content（11.12ng/individual）was reached during the 1st～2nd day after attachment when analysis by GC. The amounts of 2，6-DCP declined on the 3rd～5th day after attachment just before mating，but maintained at a relatively constant level. After mating，it declined singificantly and became undetectable after engorgement.

Key words *Haemaphysalis longicornis*，2，6-DCP，mating behaviour